

Indução de calos embriogênicos em *Heliconia rostrata*.

Janay Almeida dos Santos-Serejo¹; Everton Hilo de Souza²; Fernanda Duarte Vidigal Souza¹; Lucymeire Souza Morais Lino³.

¹Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/nº, C.P. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br, fernanda@cnpmf.embrapa.br; ²Graduando em Engenharia Agrônoma (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 45380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3634-2543, e-mail: hilosouza@gmail.com; ³Doutaranda da Pós-Graduação em Biotecnologia (UEFS), 44031-460, Feira de Santana, BA, Fone (75) 3224-8132, e-mail: lsmorais@yahoo.com.br;

INTRODUÇÃO

A acentuada procura por helicônias, principalmente por parte do mercado externo tem colocado o cultivo desse gênero de plantas em posição de destaque, dentre as atividades desenvolvidas no ramo da floricultura. A *Heliconia rostrata* apresenta inflorescência pendente e encontra-se entre as cultivares mais comercializadas para paisagismo e para flor de corte.

As helicônias podem ser multiplicadas tanto por meio de sementes como por divisão de rizomas. A obtenção de plantas por semente é um processo lento e difícil, enquanto que a propagação por divisão do rizoma pode favorecer a disseminação e acúmulo de agentes causais de importantes doenças que são transmitidas entre plantios sucessivos, via rizomas contaminados. Dentre essas doenças estão as causadas por fungos de solo (Castro, 1995).

O cultivo de meristemas *in vitro* para a produção de mudas de helicônia apresenta alta incidência de contaminação por bactérias endofíticas. Portanto, a regeneração de plantas a partir de embriões somáticos constitui uma alternativa interessante para a produção em larga escala de mudas de helicônia com elevada qualidade fitossanitária.

Dois padrões básicos de expressão da embriogênese somática são comumente observados *in vitro* (Sharp *et. al*, 1980). O primeiro corresponde ao modelo direto no qual os embriões somáticos originam-se dos tecidos matrizes sem a formação de estágios intermediários de calos. O segundo padrão corresponde ao modelo indireto no qual os embriões somáticos se formam a partir de um tecido intermediário chamado calo, que apresenta células em diferentes estágios de diferenciação e, conseqüentemente com diferentes graus de determinação.

A obtenção de calos embriogênicos depende de diferentes fatores, entre eles encontram-se o genótipo, o tipo de explante e os componentes meio de cultivo (Guerra *et al.*, 1999).

Este trabalho tem por objetivo a adequação de um protocolo para indução de calos embriogênicos em *H. rostrata*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados embriões zigóticos maduros de *H. rostrata*. Os frutos maduros foram lavados com detergente em água corrente para extração das sementes. Em câmara de fluxo laminar, as sementes foram desinfestadas com etanol a 70% por 2 minutos, seguidas pela imersão solução de hipoclorito de sódio a 50% e 10 gotas L⁻¹ de Tween 20 durante 15 minutos. Logo após, enxaguados três vezes com água destilada estéril.

Os embriões foram excisados por uma leve pressão na região da radícula das sementes, com o auxílio de uma pinça, e colocados em meios de cultura.

Os meios utilizados para indução de embriogênese somática foram: MS (Murashige & Skoog 1962), suplementado com 3% de sacarose, e diferentes concentrações de Picloran e 2,4D (ácido diclorofenilacetico); e GD (Gresshoff & Doy, 1974), suplementado com 2% de

sacarose, 8 mg L⁻¹ de Picloran. Os meios foram solidificados com 0,7% de ágar e pH ajustado com 5,8, autoclavado a 120°C durante 20 minutos.

Os embriões foram inoculados em placas de Petri contendo 15 mL de meio de cultura nos diversos tratamentos: T01 - MS + 2 mg L⁻¹ de Picloran; T02 - MS + 4 mg L⁻¹ de Picloran; T03 - MS + 8 mg L⁻¹ de Picloran; T04 - MS + 2 mg L⁻¹ de 2,4-D; T05 - MS + 4 mg L⁻¹ de 2,4-D; T06 - MS + 8 mg L⁻¹ de 2,4-D; e T07 - GD + 8 mg L⁻¹ de Picloran.

Os embriões foram mantidos no escuro a temperatura de 27±1°C. A avaliação foi feita 120 dias após a inoculação, com base nas observações visuais de características qualitativas, com o auxílio de um estereomicroscópio.

O ensaio experimental foi feito com 10 repetições nos diferentes meios de cultura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 120 dias de cultivo, a formação de calos embriogênicos foi observada apenas no meio MS contendo 4 mg L⁻¹ e 8 mg L⁻¹ de Picloran (Figura 1a-b), em 20% e 100% dos explantes, respectivamente. No tratamento onde se utilizou o meio GD com 8 mg L⁻¹ houve a formação de calos não embriogênicos (Figura 1c-d). Nos demais tratamentos foi observada a ocorrência de oxidação dos explantes.

A presença de 2,4-D no meio de cultura não teve um efeito positivo com relação à indução de calos em *H. rostrata*. Resultados semelhantes foram obtidos por Ulisses et al. (2005) em *H. bihai*, durante 90 dias de cultivo, onde o desenvolvimento de embriões somáticos ocorreu apenas em embriões zigóticos derivados de frutos maduros cultivados na ausência do regulador de crescimento 2,4-D.

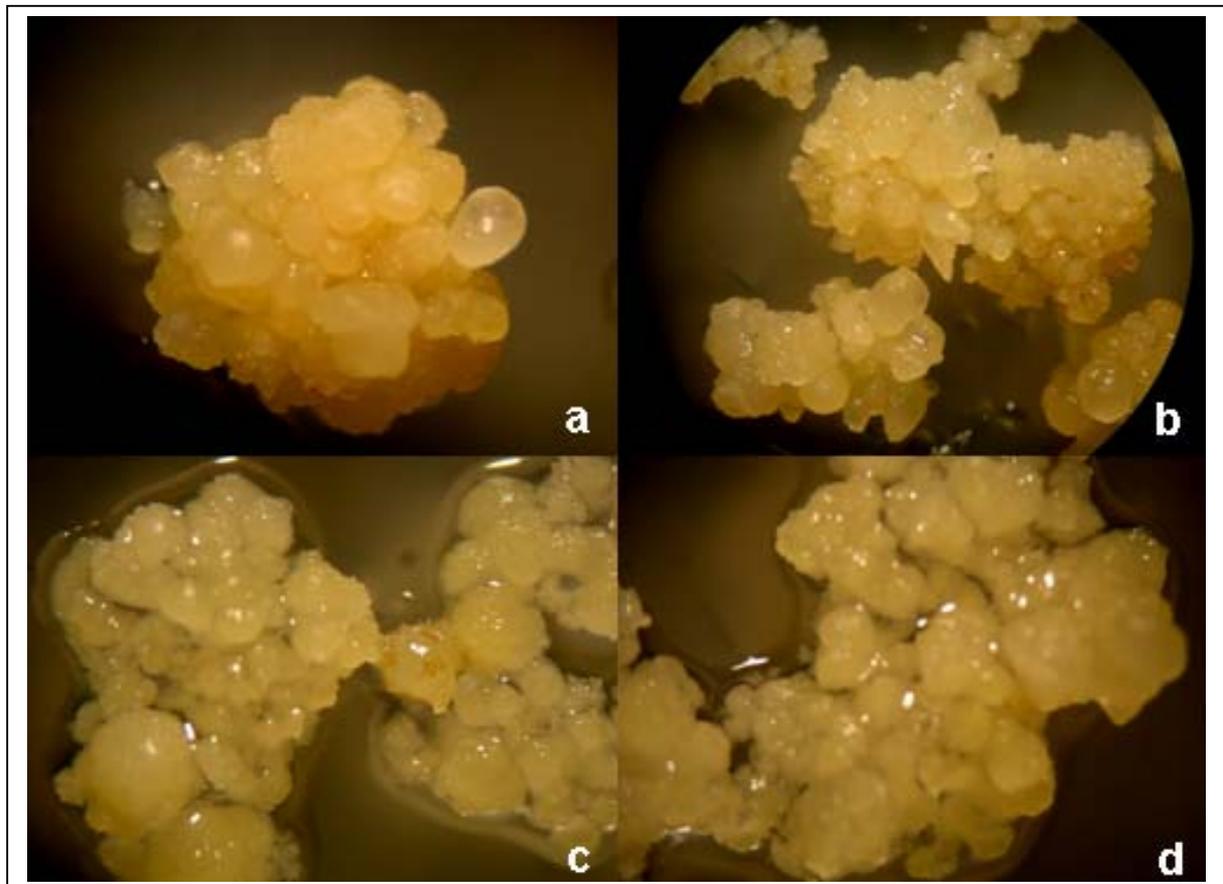


Figura 1. Embriogênese somática em *H. rostrata*, induzida em diferentes meios de cultura: a, b) Meio MS + 8 mg L⁻¹ de Picloran; c, d) GD + 8 mg L⁻¹ de Picloran.

Os resultados obtidos são promissores e mostram a viabilidade do uso desta técnica em programas de conservação e multiplicação destas cultivares. No entanto, novos trabalhos devem ser realizados no sentido de aprimorar essa técnica partindo-se dos resultados encontrados nesse trabalho, visando a regeneração de plantas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTRO, C.E.F. de. Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília: Embrapa - SPI, **Série Publicações Técnicas Frupex**, 16. 1995. 44p.

GRESSHOFF, P.M.; DOY, C.H. Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum* (tomato). **Planta**, v.107, p.161-170, 1972.

GUERRA, M.P.; TORRES, A.C.; TEIXEIRA, J.B. 1999. Embriogênese somática e sementes sintéticas. In: Torres AC; Caldas LS; Buso JA. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa Hortaliças, p. 533-568.

MURASHIGE, T. & SKOOG., F.; **A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures**. *Physiologia Plantum*, 1962, p. 473-97.

SHARP, W. R., EVANS, D.A., SONDAHL, M.R. **Application of somatic embryogenesis to crop improvement**. In: FUJIWARA, A. (Ed.). *Plant Tissue Culture*. Tokio, Maruzen. p. 759-762, 1982.

ULISSES, C.; CAMARA, T.R.; FLAVIA, G.; WILLADINO, L.; BRITO, J. Z. Somatic embryogenesis in *Heliconia bihai* from zygotic embryos. In: **XII Congresso Latino Americano de Fisiologia Vegetal**, 2005. CDRom

PALAVRAS-CHAVE

Heliconia rostrata, embrião somático, cultura de tecidos.